

PROSTAT DOKUSUNDA FINASTERİD, BİKALUTAMİD VE CERRAHİ KASTRASYON İLE OLUŞTURULAN MİKRODAMAR YOĞUNLUĞU DEĞİŞİKLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

THE EVALUATION OF MICROVESSEL DENSITY IN RAT PROSTATE TISSUES TREATED WITH FINASTERIDE, BICALUTAMIDE AND SURGICAL CASTRATION

KAYA C., ÖZYÜREK M., TÜRKERİ L.

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

Benin prostat hiperplazisine bağlı makroskopik hematüri, ürolojide sık karşılaşılan bir sorundur ve tedavisinde antiandrojenlerin etkinliği bilinmektedir. Prostat kan akımının androjenlerin etkisi altında olduğu ve hormonal tedavilerin ventral prostat kan akımını belirgin olarak azalttığı yapılan hayvan deneylerinde gösterilmiştir. Androjenin prostatik kan akımı üzerindeki etki mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen, bu etkinin stromal ya da epitelyal hücrelerde bulunan vazoaktif maddelerin üretilmesi sonucu meydana gelebileceği öne sürülmektedir. Hematüri ile başvuran BPH'lı hastalarda, etki mekanizmaları ve yan etkileri farklı olan değişik antiandrojenler başarılı bulunmuşsa da, henüz en uygun tedavi konusunda fikir birliğine varılamamıştır. Ayrıca optimum etkiyi sağlayacak ilaç ve bunun dokuda oluşturduğu değişiklikler de henüz netleşmiş değildir.

Bu çalışmada, yan etki profili ve etki mekanizmaları birbirinden farklı olan üç ayrı hormonal tedavinin sıçan ventral prostatındaki anjiyogenez ve mikrovaskülerite üzerindeki etkisi karşılaştırılmıştır. Bu amaçla, 28 gün süre ile finasterid ve bikalutamid tedavisi verilen sıçanlar ile skrotal orşiyektomi (kastasyon) yapılan ve kontrol grubunda bulunan sıçanlardan elde edilen ventral prostat dokularındaki mikrodamar yoğunlukları (MDY) immünohistokimyasal yöntemlerle karşılaştırılmıştır.

Kastasyon grubunda mikrodamar sayısı, diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunurken, bikalutamid ve finasterid grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Ancak her iki grupta da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda MDY azalması saptanmıştır ($p<0.05$).

Bu çalışmada anjiyogenezin baskılanması açısından finasterid kastasyon Prostat dokusunda izlenen anjiyogenez baskılamada finasterid kastasyon kadar etkili olmasa da, bikalutamide eşdeğer nitelikte bulunmuştur. Yan etki profilinin de daha düşük olması nedeniyle finasterid, prostat kaynaklı hematüride kullanılabilecek etkin bir ajan olabilir.

Anahtar Kelimeler: Mesane Kanseri Fibronektini (BTF), Mesane Kanseri, ROC

ABSTRACT

Gross hematuria associated with BPH is a common problem in Urology. It has been shown that blood flow to the prostate is grossly affected by androgens and antiandrogens decrease this blood flow. Although the mechanism of action is not well known, the production of vasoactive substances from the stromal or epithelial cells may cause this effect.

Although, a group of antiandrogens with different mechanism of action and adverse effects have been investigated in patients with gross hematuria related to BPH, there is not yet any consensus about the standart treatment of these patients.

In this study, the effects of three different hormonal therapies on angiogenesis and microvasculature of rat ventral prostate were compared. After treatment with finasteride and bicalutamide for 28 days in group 1 and 2; and after surgical castration in group 3, with dissection of ventral prostates was followed by immunohistochemical analysis of microvessel density by factor VIII-related antigen.

Angiogenesis was suppressed significantly more in castration group. Bicalutamide and finasteride treatments provided a similar decrease in microvessel density compared to the control group. In conclusion, finasteride was not as effective as castration however it was equal to bicalutamide in terms of suppressing the angiogenesis in prostatic tissue. Because of its comparable effect and limited side effects, finasteride may offer a viable option in the management of macroscopic hematuria due to an enlarged prostate.

Key Words: Prostate, angiogenesis, microvessel density, hormonal therapy

GİRİŞ

Benin prostat hiperplazisinin (BPH) gelişiminde yeni damar oluşum sürecinin önemli bir yeri vardır. Bu hastalıkta görülen önemli problemlerden bir tanesi, oldukça sık karşılaşılan ve anjiyogenez ile ilişkili olduğu bilinen hematüridir¹.

Son zamanlarda yapılan immünohistokimyasal çalışmalarla, BPH'ne bağlı olduğu düşünülen makroskobik hematürili olgularda subürotel-yal mikrodamar yoğunluğunun (MDY), hematürinin oluşmasında önemli rolü olabileceği vurgulanmış ve bu grup hastalarda daha geniş çalışmalara gerek duyulduğu bildirilmiştir².

Prostat dokusunda anjiyogenez düzenleyen faktörler tam olarak bilinmemekle birlikte androjenlerin önemli bir yeri olduğu düşünülmektedir. Kastrasyonun, ventral prostatta kan akımını azalttığı, ardından uygulanan testosteron tedavisinin ise azalan kan akımını hızlı bir şekilde yeniden düzelttiği gözlenmiştir³. Ayrıca androjenik uyarıyı durduran tedavi yöntemleri ile MDY'na etki edilerek hematürinin ortadan kaldırılmasına yönelik klinik ve deneysel çalışmalar da yapılmaktadır. Hormonal tedavilerin prostat dokusunda ortaya çıkardığı MDY değişikliklerinin, BPH'ne bağlı hematürilerin hormonal tedavi ile önlenmesinin mekanizmasını açıklayabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, yan etki profili bakımından birbirinden farklı üç ayrı yöntem ile oluşturulan hormonal tedavilerin sıçan ventral prostatında MDY üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Sağlıklı, erişkin toplam 28 adet Sprague-Dawley (300±50 gr.) sıçan ile dört ayrı grup oluşturuldu. Birinci grupta bulunan sıçanlara (n=7) 28 gün süre ile finasterid (MSD, ABD), 40 mg/kg/gün dozunda ve musluk suyunda eritilerek hazırlanan bir solüsyon olarak oral yoldan verildi. İkinci grupta bulunan aynı sayıdaki sıçana, yine aynı süre ile oral yoldan 25 mg/kg/gün bikalutamid (Astra-Zeneca, İngiltere) verildi. Her iki grupta bulunan sıçanlar tedavi sonrası yüksek doz sodyum pentobarbital (100 mg/kg, i.p.) ile sakrifiye edildi ve ventral prostatları (VP) diseke edilerek çıkartıldı. Cerrahi kastrasyon grubunda bulunan sıçanlar (n=6) ise bilateral skrotal orşie-

yektomi yapıldıktan 7 gün sonra sakrifiye edilerek VP diseke edildi. Kontrol grubuna alınan sıçanlar (n=7) ise herhangi bir girişim yapılmaksızın sakrifiye edildi ve VP diseksiyon ile çıkartıldı.

Ventral Prostat Diseksiyonu: Tüm sıçanlarda intraperitoneal yoldan anestezi uygulandıktan sonra, 2 cm'lik orta hat abdominal insizyon yapılarak künt ve keskin diseksiyonlar ile prostata ulaşıldı ve prostat diseke edilerek vücut dışına alındı. Ardından vücut dışına alınan spesimenden VP diseksiyonla elde edildi⁴. VP dokusu immünohistokimyasal olarak vasküler alan yoğunluğu (MDY) analizi amacı ile %10'luk nötral tamponlu formaldehid solüsyonu ile fikse edilip, dehidrate edildi ve parafine gömüldü. Parafin blokları hazırlanan prostat dokularından 5 mikrometre kalınlıkta kesitler alındı. Avidin-biotin-Peroxidase tekniği uygulanarak yapılan immünohistokimyasal incelemeler Üroloji A.D. Ergun Özalp Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

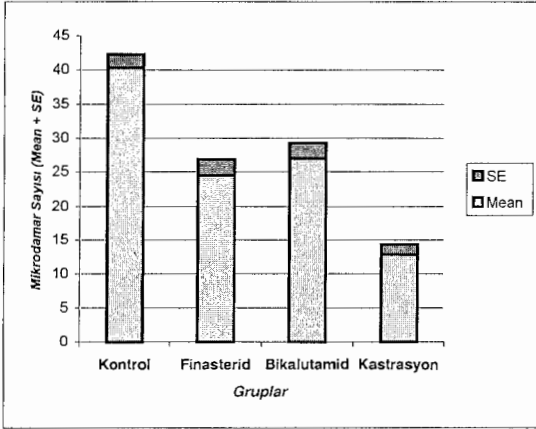
İmmünohistokimya: Anjiyogenik aktiviteyi ölçmek için preparatlara primer antikor olarak, bir endotelial hücre antijeni olan von Willebrand faktörüne (faktör VIII) karşı oluşturulan poliklonal antikorlar (Dako, Santa Barbara, CA) uygulandı. Sitoplazmik immünoraktivite bütün spesimenlerde küçük, orta ve büyük boyutlu damarların endotel hücrelerinde değerlendirildi. Kontrol grubuna ait prostat dokusu her bir seri boyamada eksternal kontrol olarak kullanıldı. Preparatlarda dört farklı alanda, 100 X büyütmede, preparatın hangi çalışma grubuna dahil olduğu bilinmeden, ışık mikroskobu yardımı ile mikrodamarlar sayılarak skorlanma yapıldı. Diğer damar yapıları ve bağ doku elemanlarından kolayca ayırt edilebilen her bir faktör VIII-ilşkili antijen-pozitif olan endotelial hücre yada endotelial hücre kümesi bir adet sayılabilir mikrodamar olarak değerlendirildi.

Elde edilen veriler gruplar arası farklılıklar yönünden 'One-way analysis of variance (ANOVA)' yöntemi ile karşılaştırıldı. P<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Finasterid, bikalutamid ve cerrahi kastrasyon tedavisi uygulanan sıçanlardan elde edilen

ventral prostat dokusu kesitlerinde yapılan mikrodamar yoğunluğu değerlendirmesinde ortalama mikrodamar sayısı, Grup 1'de (finasterid grubu) 24.5 ± 8.44 (SE); Grup 2'de (bikalutamid grubu) 27 ± 9.89 (SE); Grup 3'de (kastrasyon grubu) 12.9 ± 5.35 (SE) ve Grup 4'de (kontrol grubu) ise 40.3 ± 5.03 (SE) olarak saptandı (Şekil 1).



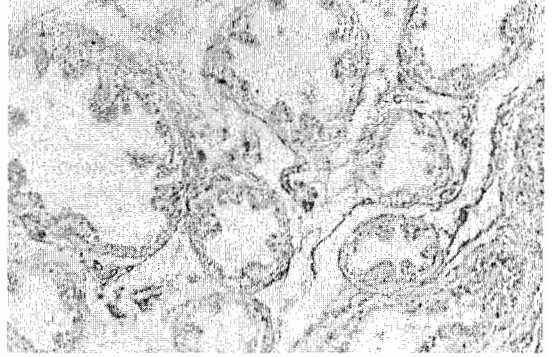
Şekil 1. Tedavi Grupları Mikrodamar Sayılarının (Mean+ Standart Error) Karşılaştırılması

İstatistiksel olarak her üç tedavi grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulundu ($p < 0.005$) (Şekil 1). Kontrol grubundaki mikrodamar sayısı, diğer gruplara kıyasla anlamlı olarak yüksek idi. Bikalutamid grubundaki ortalama mikrodamar sayısı, istatistiksel olarak kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşük olmasına karşın, kastrasyon grubuna göre anlamlı oranda yüksekti ($p < 0.005$) (Resim 1). Finasterid tedavisi alan grubun VP dokusundaki mikrodamar sayısı ise, kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşük, buna karşın kastrasyon grubuna göre yüksek bulundu ($p < 0.05$) (Resim 2). Finasterid ve Bikalutamid grupları arasında ise anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Kastrasyon yapılan grupta ortalama mikrodamar sayısı tüm gruplara göre anlamlı derecede düşük saptandı ($p < 0.05$) (Resim 3).

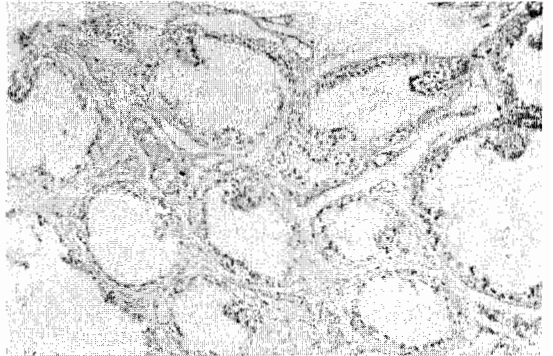
TARTIŞMA

Makroskopik hematüri, BPH'lı hastaların büyük bir kısmında hayat kalitesini oldukça fazla etkileyen ve acil üroloji pratiğinde önemli yeri olan bir durumdur. Klinik çalışmalarda, tedavi gerektiren hematüri olguların yaklaşık beşte birinde saptanan tek patolojinin BPH olduğu bulunmuştur⁵. Gerek uzun süreli hematüriden dola-

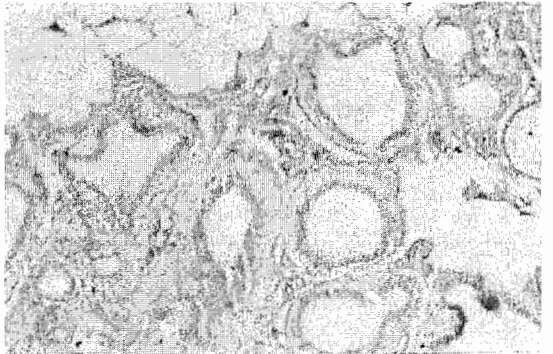
yı oluşan anemi, gerekse meydana gelen pıhtı oluşumu ve ardından gelişen retansiyon nedeni ile alt üriner sistem semptomlarının artması söz konusudur. Pıhtı oluşumu nedeniyle tekrarlayan akut üriner retansiyonlar hasta ve hekim açısından önemli sıkıntılar doğurabilir.



Resim 1. Bikalutamid grubundaki ortalama MDY kastrasyon grubuna göre yüksek bulundu.



Resim 2. Finasterid tedavisi alan grupta MDY kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşük, kastrasyon grubuna göre yüksek bulundu.



Resim 3. Kastrasyon yapılan grupta ortalama MDY (mikrodamar sayısı) anlamlı derecede tüm gruplara göre düşük saptandı.

Marshall ve Narayan¹, prostat hiperplazisinin izlenen asiner ve stromal hücre proliferasyonunun stimülasyonu ile oluşan anjiyogenezin tekrarlayan prostat kaynaklı hematürilere neden olduğunu belirtmişlerdir. Bu hipotez ışığında, hematüri olgularda hücresel seviyede oluşan değişiklikleri tanımlamak için yapılmış bir çalışmada prostat dokusu kesitlerinde sub-ürotelyal bağ dokusunun mikrovasküler anatomisi incelenmiş ve MDY istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Bu nedenle de sub-ürotelyal mikrodamar proliferasyonunun, BPH kaynaklı kanamalardan sorumlu olduğu öne sürülmüştür². Prostat doku kesitlerindeki endotelial hücrelerin immünohistokimyasal olarak görünür hale getirilmesi ile incelenebilen MDY'nu, birim doku hacmindeki tüm mikrodamar segmentlerinin sayısı ve uzunluğu belirlemektedir. Normal prostat dokusu, BPH dokusu, PIN ve prostat kanserli doku kesitleri incelendiğinde, mikrodamarların yapısının değiştiği ve sayısının giderek arttığı görülmüştür⁶.

BPH hastalarının prostatektomi ile elde edilen doku kesitlerinden yapılan bir çalışmada, damarlar Faktör VIII-iliskili antijene özgü antikörle boyanıp görünür hale getirildikten sonra, damar yoğunluğu bilgisayarlı görüntü analizi ile değerlendirilmiş ve MDY'nun özellikle nodüler morfolojinin izlendiği alanlarda, önceki çalışmalara göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir⁷.

Son birkaç yılda yapılan klinik çalışmalarda finasterid, BPH kaynaklı hematüride, uzun dönemde oldukça faydalı bulunmuştur. Finasterid tedavisi sonrası izleme alınan hastaların uzun dönem takibinde elde edilen bulgular sonucunda bu hasta grubunda finasterid ilk basamak tedavi olarak yerini almaktadır^{8,9}. Bu etki büyük olasılıkla mikrodamarlar düzeyinde anjiyoneogenezin baskılanması ile ortaya çıkmaktadır. Nitekim bizim çalışmamızda da finasterid en az bikalutamid kadar etkili olacak şekilde MDY'da azalma sağlamıştır.

Finasterid ve bikalutamidin sıçanlarda ventral prostata olan kan akımını anlamlı olarak azalttığını gösteren bir çalışmada, finasterid bu etkisini uygulamanın 7. gününden sonra göstermiştir¹⁰. Kastrasyon ile elde edilen sonuca göre daha yavaş olmasına karşın, kan akımını azaltmadaki etkisi benzer bulunmuştur. Köpeklerde yapılan bir çalışmada, uzun süreli finasterid uy-

gulamasının ardından ortalama prostat ağırlığında azalma ve epitelyal atrofinin izlenmesi, finasteridin hem glandüler, hem de fibromusküler dokuyu etkilediğini düşündürmektedir¹¹. Finasterid, testosteronun dihidrotestosterona dönüşümünü engelleyerek prostat dokusunda anjiyogenezden sorumlu olan ve testostere duyarlı büyüme faktörlerinin aktivitesini azaltarak anjiyogenez, dolayısıyla da prostatik kökenli kanamayı engelliyor olabilir¹².

Bir non-steroidal antiandrojen olan bikalutamidin de sıçanlarda ventral prostata olan kan akımını belirgin şekilde azalttığı bilinmektedir¹³. Bizim çalışmamızda bikalutamid grubundaki sıçanların ventral prostat dokusunda izlenen mikrodamar yoğunluğu, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük bulunmuş ($p < 0.05$) ancak finasterid grubuna göre belirgin bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Kastrasyonun, erişkin rat ventral prostatında damarlanmayı belirgin derecede azalttığı daha önce de gösterilmiştir. Sıçanlarda ventral prostatteki kan akımının kastrasyon sonrası 24 saat içinde azaldığı ve prostatik vasküler sistemde ileri derecede dejeneratif değişikliklerin ortaya çıktığı bilinmektedir³. Kastrasyon kadar etkili olmadığı bildirilen bikalutamid tedavisinin, yan etki profili açısından kastrasyona göre daha iyi tolere edildiği belirtilmiştir¹⁰. Kastrasyon tedavi olarak çok etkili olmakla birlikte libido kaybı, erektil disfonksiyon, yorgunluk, kas güçsüzlüğü, depresyon, sıcak basması ve fiziksel aktivitede belirgin azalma gibi tolere edilmesi güç yan etkiler görülmektedir. Sonuç olarak bu çalışmada finasterid ile elde edilen anti-anjiyogenik etki kastrasyon kadar güçlü olmamakla birlikte bikalutamidin etkisine yakın bulunmuştur. Yan etki özellikleri daha az olduğundan, finasterid BPH'ye bağlı hematürinin tedavisinde randomize prospektif klinik çalışmalar ile araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1- Marshall S, Narayan P: Treatment of prostatic bleeding: Suppression of angiogenesis by androgen deprivation. J Urol., 149: 1553, 1993.
- 2- Foley SJ, Bailey DM: Microvessel density in prostatic hyperplasia. BJU Int., 85: 70-73, 2000.
- 3- Lekas E, Johannson M, Widmark A, Bergh A, Damber J-E: Decrement of blood flow precedes

- the involution of the ventral prostate in the rat after castration. *Urol Res.*, 25: 309, 1997.
- 4- **Shabsigh A, Tanji N, D'Agati V, Burchardt T, Burchardt M, Hayek OR, Shabsigh R, Buttyan R:** Vascular anatomy of the rat ventral prostate. *The Anatomical Record*, 256: 403-411, 1999.
 - 5- **Lynch TH, Waymont B, Dunn JJ, Hughes MA, Wallace DMA:** Rapid diagnostic service for patients with hematuria. *Br J Urol.*, 73: 147-151, 1994.
 - 6- **Bostwick DG, Wheeler TM, Blute M, Barret DM et al:** Optimized microvessel density analysis improves prediction of cancer stage from prostate needle biopsies. *Urology*, 48: 147-57, 1996.
 - 7- **Deering RE, Bigler SA, Brown M, Brawer MK:** Microvasculature in benign prostatic hyperplasia. *Prostate*, 26(3): 111-115, 1995.
 - 8- **Miller MI, Puchner PJ:** Effects of finasteride on hematuria associated with benign prostatic hyperplasia: long-term follow-up. *Urology*, 51: 237-240, 1998.
 - 9- **Shao TC, Kong A, Marafeta P, Cunningham GR:** Effects of finasteride on the rat ventral prostate. *J Androl.*, 14(2): 79-86, 1993.
 - 10- **Lekas E, Bergf A, Damber JE:** Effects of finasteride and bicalutamide on prostatic blood flow in the rat. *BJU Int.*, 85: 962-965, 2000.
 - 11- **Moon SY, Moon W-C, Choi HR et al:** Finasteride inhibits angiogenesis and expression of VEGF in human prostates. *AUA Proceedings* abstract no: 1276, 1998.
 - 12- **Puchner PJ, Miller MI:** The effects of finasteride on hematuria associated with benign prostatic hyperplasia: A preliminary report. *J Urol.*, 154: 1774, 1995.
 - 13- **Eri LM, Swindland A, Tveter KJ:** The effect of bicalutamide on prostate histology. *Prostate*, 46: 275-280, 2001.